

大壁虎的染色体及减数分裂 联会复合体的研究*

王蕊芳 马 昆 施立明 贺维顺

(中国科学院昆明动物研究所)

关键词: 染色体组型, 核仁组织者, 联会复合体, 减数分裂, 大壁虎

大壁虎 (*Gekko gecko*) 的染色体数目为 $2n=38$, 核型由 2 对中着丝粒 (Nos. 1, 4.), 3 对亚中着丝粒 (Nos. 2, 3, 5) 及 14 对端着丝粒和亚端着丝粒 (Nos. 6—19) 染色体组成。一对核仁组织者 (NORs), 位于第 7 对端着丝粒染色体的末端。同时, 本文还对大壁虎的减数分裂以及联会复合体 (S. C) 的结构和组型, 进行了详细的观察和分析。

大壁虎俗名蛤蚧, 属爬行纲、蜥蜴目 (Iacertiformes)、壁虎科 (Gekkonidae)、壁虎属 (*Gekko*) (Smith, 1935)。分布于我国广东、广西、云南等省。有很高的药用价值。吴贯夫 (1984)、Cohen 等 (1967) 曾报道过大壁虎的常规核型。近年来, 减数分裂、特别是联会复合体 (S. C) 的研究进展很快。迄今, 已有哺乳类、鸟类、昆虫的 S. C 研究报告 (施立明, 1986)。Foresti 等 (1983) 及马昆等 (1987) 亦对鱼类的 S. C 作了研究。但爬行类的 S. C 研究, 据我们所知, 尚未见报道。本文对大壁虎的核型特征、核仁组织者的数目和分布以及减数分裂, 特别是 S. C 的亚显微结构作了详细的描述。

材 料 和 方 法

材料: 2♂♂, 2♀♀。购自红河州个旧市。

有丝分裂染色体标本制备: 以骨髓离体短期培养方法—取后肢股骨和胫骨, 剥除肌肉后放入培养皿中, 用培养基 (80% 199 培养基 + 20% 小牛血清 + 双抗) 洗二次, 剪碎, 取骨髓细胞悬浮液接种入链霉素瓶中, 置于 28°C 恒温培养箱培养 16—18 小时, 收集细胞前 12 小时左右加秋水酰胺, 最终浓度约为 0.12—0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 按常规空气干燥法制片。

银染方法: 以 Howell 等 (1980) 硝酸银染色方法显示 NORs。

联会复合体 (S. C) 标本的制备和观察: 取性成熟的大壁虎睾丸, 剪成碎片。用

史庆华和冯蜀举同志协助部分工作, 谨此致谢。

本文 1988 年 6 月 23 日收到, 同年 8 月 28 日修回。

0.5%氯化钾在室温下低渗15—20分钟,离心后弃上清液,采用界面铺张方法(Moses, 1977)制备S.C标本。按Howell等(1980)方法,进行硝酸银染色。在光镜下选择S.C分散良好的细胞,转移到单孔铜网(详细程序见马昆等1987的报道)。用日立H—300电镜(电压75 KV.)观察。联会复合体的测量参考Weng Kong Sung等(1982)方法,测量10个细胞,计算S.C的平均相对长度,并与相应的有丝分裂染色体的相对长度,作相关性统计学分析。根据计算结果绘制S.C组型图。

减数分裂染色体标本的制备按Evans等(1964)方法:处死动物后立即取出睾丸,放入0.9%的柠檬酸钠或0.5%的氯化钾溶液中剪碎,低渗30分钟后离心,常规甲醇、冰醋酸(3:1)固定,空气干燥法制片,Giemsa染色。

结果与讨论

大壁虎(*Gehko gecko*)体细胞染色体数 $2n=38$,核型中有以下两组染色体:

A组:为双臂染色体,其中第1对和第4对为中着丝粒染色体。第2、3对和第5对为亚中着丝粒染色体。

B组:第6—19对染色体,其中第17对为亚端着丝粒染色体,其他均为端着丝粒染色体。

在所观察的120个细胞中,均未发现微小染色体。也未见形态有差异的性染色体。硝酸银染色显示有一对NORs,位于B组第7对染色体的末端(图版I箭头所示)。

大壁虎的减数分裂与其他动物相似。细线期的染色体呈细线状,缠绕在一起(图版I A)。在偶线期,同源染色体开始配对(图版I B)。粗线期染色体明显缩短变粗,同源染色体完成配对(图版I C)。双线期交叉端化,同源染色体开始分离(图版I D)。中期I因着丝点位置的不同和交叉数目的多少,双价体呈各种不同的形态,有呈环状,也有呈棒状(图版I E)。在中期I,染色体数已减半,每条染色体的两条染色单体开始分离,只在着丝粒处保持联系(图版I F)。需要指出的是,在整个减数分裂前期,都未见有特殊行为的分化性染色体或类似哺乳动物中常见的性泡结构。

电镜观察表明,蛤蚧的S.C结构亦与其他的动物相似。两条侧线紧密相靠,侧线上显著加厚处,即染色较深、略膨大的为着丝粒。需要指出的是,在有丝分裂染色体核型中,B组染色体只有1对亚端着丝粒染色体,其他均为端着丝粒染色体,很不易察觉微小的短臂,但在S.C核型中,有几条S.C(B组Nos. 6. 7. 12. 16. 17)都有明显的微小短臂,不同于其余的端着丝粒S.C。B组第7对S.C的末端附有很大的黑色斑块,即核仁残留物(图版I),表明这是核仁染色体。

根据10个粗线期S.C及有丝分裂细胞的测量结果,计算S.C及有丝分裂染色体的相对长度,结果表明,二者有显著的相关性(相关系数 $r=0.992$)(表1、图1)。按着丝粒位置和长度递减顺序绘制大壁虎体细胞染色体及S.C组型图(图2),二者基本吻合。

据Cohen(1967)的报道,大壁虎的核型组成是 $4m$ (Nos. 18, 19) + $6sm$ (Nos. 1, 2, 3) + $26t + 2st$ 。而吴贯夫等(1984)报道的广西大壁虎核型为 $6m$ (Nos. 1,

表1. 大壁虎联会复合体与体细胞染色体相对长度的比较
 Tab. 1. Relative length of S.C compared with that of somatic
 chromosomes in *Gekko gekko*

NO	联会复合体(SC)			体细胞染色体(SM)		
	MSC	SD	CV	MS	SD	CV
1	0.117	0.006	4.88	0.127	0.006	4.36
2	0.109	0.006	5.24	0.116	0.006	4.85
3	0.088	0.004	4.37	0.088	0.007	7.82
4	0.02	0.003	17.39	0.026	0.003	12.17
5	0.019	0.002	9.30	0.022	0.003	14.40
6	0.077	0.003	4.08	0.075	0.005	6.08
7	0.075	0.004	5.23	0.067	0.006	8.75
8	0.063	0.004	6.17	0.062	0.004	6.15
9	0.059	0.004	6.21	0.056	0.003	6.13
10	0.055	0.003	5.47	0.053	0.002	3.58
11	0.050	0.003	6.14	0.048	0.004	8.23
12	0.045	0.003	6.48	0.044	0.004	8.14
13	0.040	0.003	8.15	0.040	0.002	6.02
14	0.035	0.002	5.90	0.037	0.003	8.16
15	0.034	0.003	8.57	0.035	0.003	8.17
16	0.032	0.002	7.55	0.030	0.003	10.82
17	0.031	0.002	7.79	0.029	0.002	7.83
18	0.027	0.002	7.40	0.027	0.003	11.85
19	0.025	0.003	11.66	0.023	0.003	11.23

Relative length = absolute length / Σ absolute length

MSC_i mean length of SC

MS_i mean length of somatic chromosomes

CV SD/M $\times 100\%$

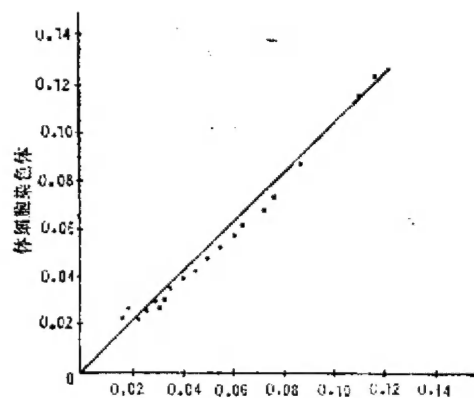


图1. 联会复合体

Fig. 1. The correlated figure of
 somatic chromosomes with SC.

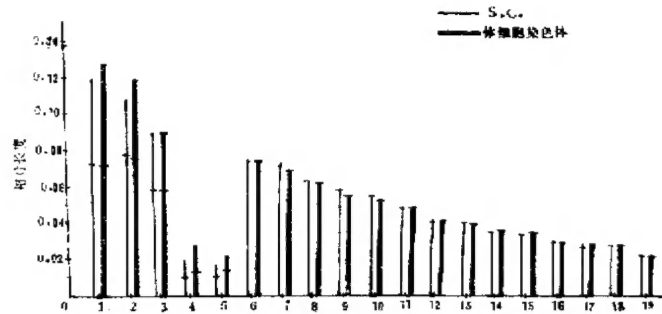


图2. 染色体序列 (横线表示着丝点位置)

Fig. 2. The idiogram of somatic chromosomes with SC.

18, 19) + 4 sm (Nos. 2, 3) + 28t. 本文中大壁虎的染色体组与上述二者基本相似, 其核型组成为 4 m (No. 1, No. 4 — 相当于上述 No. 18) + 6 sm (Nos. 2, 3, No. 5 — 相当于上述 No. 19) + 26t + 2st. 值得注意的是, 三者报道的大壁虎在分类上是属同一个种, 染色体组型也基本一致, 其中微小差异是否涉及亚种的分化, 尚有待进一步研究。

据Beack等 (1964, 1969) 阐述, 大部分蛇类均有异形性染色体, 而蜥蜴中尚未发现有分化的性染色体。根据我们的观察, 在大壁虎体细胞及 S. C 核型中, 并未发现有异形性染色体。通常在减数分裂中, 异形性染色体有同常染色体不同的结构行为。在不少哺乳动物中, 包括人的精母细胞, 都发现 X 染色体上有所谓“发夹状”结构, 在某些昆虫中也曾发现类似的结构, 用硝酸银染色时, 表现较强的嗜银性 (施立明, 1982, 1986)。根据本文对大壁虎的 S. C 观察, 并未发现此类特征的结构。Cohen (1967) 对大壁虎常规核型的研究, 也未发现有异形性染色体。

在细胞遗传学中, 核型模式图的绘制是一项重要的基础工作, 通常以有丝分裂染色体为对象。但是, 在制片过程中, 有时会出现染色体收缩过短, 特别是较小的染色体, 收缩成点状, 这就影响了着丝粒位置的精确测定。S. C 的研究, 有时可以更精确地确定着丝粒的位置, 正好弥补了这一缺陷, 从而可以绘制更为精确的 S. C 模式图。这在我们绘制大壁虎的 S. C 的模式图时亦得到了证明。

参 考 文 献

- 吴贯夫、赵尔宓 1984 大壁虎和蹼趾壁虎的染色体组型研究 两栖爬行学报. 3 (2): 61—64.
 马昆、施立明 1987 黄鳝减数分裂和联会复合体组型分析, 动物学研究 8 (2): 159—163.
 施立明 1985 减数分裂染色体研究的新进展—联会复合体分析及其应用, 生物科学动态 5: 5—11.
 Beack, w. et al. 1964 Close karyotypical kindship between reptilian suborder Serpentes and the class Aves. *Chromosoma*(Berl.) 15: 606—607.
 Beack, W. and M. L. Beack 1969 Cytotaxonomy and chromosomal evolution in Serpentes. *Cytogenetics* 8: 247—262.
 Cohen, M. M. et al. 1967 The somatic chromosomes of 3 lizard species, *Gekko gekko*, *Iguana iguana* and *Crotaphytus collaris*. *Experientia*. 23: 769—771.

- Foresti, F. *et al.* 1983 Silver-stained NOR and synaptonemal complex analysis during male meiosis of *Tilapia rendalli*. *J. Heredity*, 74(2), 127—128.
- Howell and Black 1980 Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer, 1-step method. *Experientia*, 36, 1014—1015.
- Moses, M. J. 1977a. b. Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster. I. Morphology of the autosomal complement in spread preparations. II. Morphology of the XY pair in spread preparations. *Chromosoma*, 60, 99—137.
- Shi Liming *et al.* 1982 Demonstration of kinetochores and centrioles in spermatocytes of two species of Cockroaches by silver staining. *Chromosoma*, (Berl.) 85(3), 421—426.
- Smith, M. A. 1935 The fauna of British and Burma. *Reptilia and Amphibia*, 2, 111.
- Weng Kong Sung and Georgiana Lagiello 1982 A technique for light and electron microscopy of the synaptonemal complex of the mouse oocyte. *Can J. Genet. Cytol.* 24(6), 675—680.

STUDIES ON THE MITOTIC KARYOTYPE AND SYNOPTONEMAL COMPLEX OF *GEKKO GECKO*

Wang Ruifang Ma Kun Shi Liming He Weshun

(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

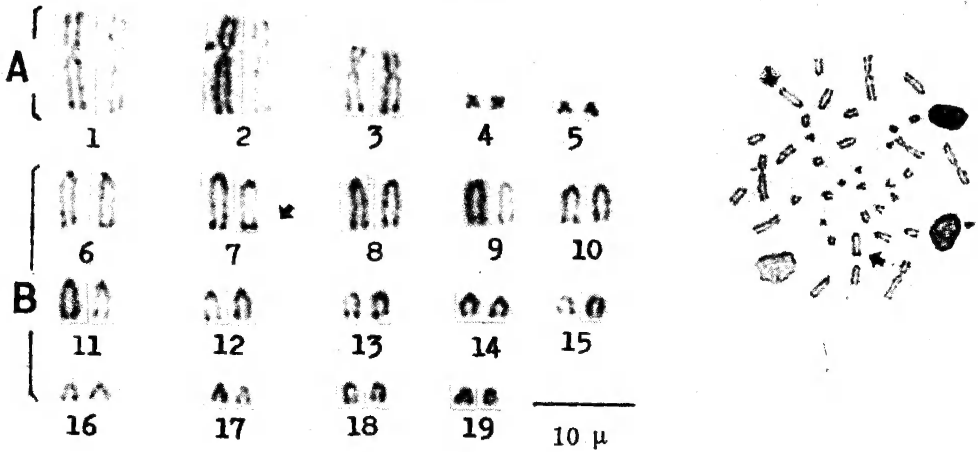
The diploid chromosome number of the *Gekko gekko* is 38 for the 2 male and 2 female studied. The karyotype consists of 2 pairs metacentric elements (Nos. 1, 4); 3 pairs submetacentric (Nos. 2, 3, 5) and 14 pairs telocentric or subtelocentric elements (Nos. 6—19). No heteromorphic sex chromosomes is observed in the karyotype of *Gekko gekko*. A pair of Ag-NOR on the terminal of No. 7 chromosome is found.

The identification and progression of the prophase stages of meiosis in *Gekko gekko* gonads are reported. With a combination of surface spreading and silver staining technique synaptonemal complex (S. C) of the *Gekko gekko* was studied by electron microscopy. The S. C karyotype of the *Gekko gekko* with 19 bivalents has been constructed.

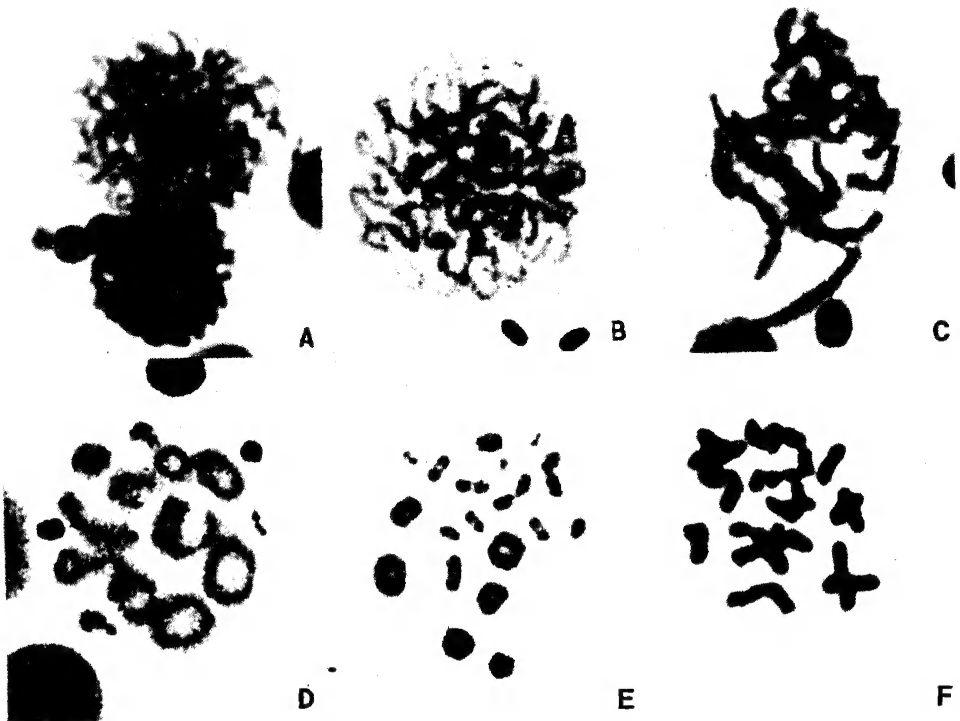
Key words: Karyotype, NORs, Synaptonemal, Meiosis, *Gekko gekko*

王蕊芳等:大壁虎的染色体及减数分裂联会体的研究
Wang Ruifang *et al.*: Studies on the Mitotic Karyotype
and Synoptonemal Complex of *Gekko gekko*

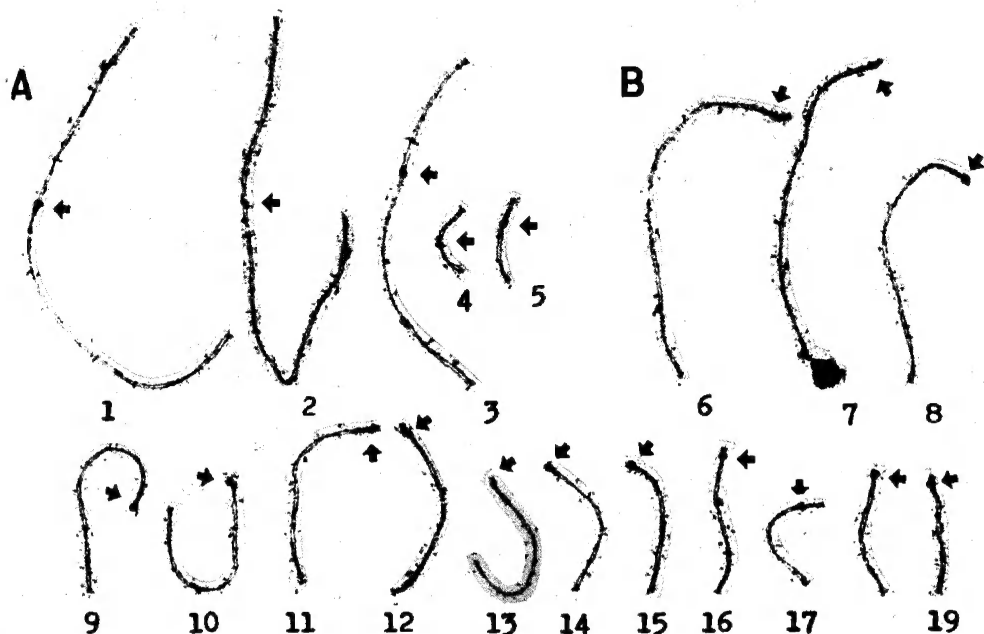
图版 I.



Silver stained karyotype of *Gekko gekko*, Arrows showing NORs (♀)



Meiosis of *Gekko gekko*; A. Leptotene; B. Late zygotene; C. Pachytene
D. Diplotene; E. Diakinesis-metaphase I; F. Metaphase II.



Synaptonemal complex and S.C. karyotype of *Gekko gekko*

Arrows showing kinetochores.